

线粒体运动及其相关的细胞骨架和蛋白

陈邵宏^{1,2}, 庞效云¹, 孙飞¹

1. 中国科学院生物物理研究所, 生物大分子国家重点实验室, 北京 100101;
2. 南京大学匡亚明学院基础学科教学强化部, 南京 210093

收稿日期: 2011-10-20; 接受日期: 2011-11-18

基金项目: “973”计划项目(2011CB910301), 国家自然科学基金创新群体项目(31021062), 中国科学院知识创新工程重要方向项目(KSCX2-EW-J-3)

通讯作者: 孙飞, 电话: (010)64888582, 传真: (010)64888376, E-mail: feisun@ibp.ac.cn

摘要: 线粒体是真核细胞中十分重要的细胞器, 它密切影响着细胞能量的供应、钙离子浓度的稳态以及细胞凋亡等过程。因此, 线粒体恰当的分布关乎细胞的功能和生存, 这就涉及到线粒体的运动和固定。在极化细胞(如神经细胞和出芽的芽殖酵母)中, 线粒体的运动与固定之间的平衡就显得更为重要。细胞骨架以及一些相关蛋白在线粒体运动过程中起着重要作用。本文对线粒体运动的要素, 如骨架蛋白、马达蛋白、衔接蛋白和线粒体上的货物蛋白等进行了归纳, 并对当前线粒体运动研究的进展进行了综述。

关键词: 线粒体运动; 神经细胞; 芽殖酵母; 细胞骨架; 马达蛋白; 衔接蛋白

中图分类号: Q27, Q71

DOI: 10.3724/SP.J.1260.2011.01019

引言

在细胞中, 线粒体运动的细胞骨架轨道主要有两种——微管和微丝; 为线粒体运动提供动力的马达分子, 包括 kinesin (驱动蛋白)、dynein (动力蛋白) 和 myosin (肌球蛋白) 三大类; 而将马达蛋白与线粒体相连的则是衔接蛋白, 如 syntabulin、milton 和 miro。

线粒体的运动可以分为两大类: 由核向外周的顺行运动, 以及由外周向核的逆行运动。高度极化的细胞(如神经细胞和芽殖酵母)对线粒体的运动十分敏感, 因此, 它们也常被作为研究线粒体的模式系统。

以下我们分别就神经细胞和芽殖酵母这两种系统综述线粒体的运动模式。

神经细胞

神经细胞是一种高度分化的细胞, 线粒体在神经细胞内的分布是与细胞能量状态和新陈代谢需求相一致的, 这就需要特殊的机制来调控线粒体的运动及其在某些特殊位点的固定, 比如活跃的生长节点附近、某些突触末梢、树突、郎飞结、远端初始段、髓鞘形成边缘和轴突蛋白合成位点^[1]。根据研究, 具有正常膜电位的线粒体表现为高水平的顺行运动; 而当膜电位和 ATP 合成活动受干扰时, 线粒体则表现为高水平的逆行运动^[2]。与此相一致,

聚集在突触前端的线粒体与其它位置的线粒体相比, 具有更高的膜电位^[3]。线粒体能量状态与其运动性的协同机制还不清楚, 然而, 以上发现提高了这样一种可能性: 线粒体顺行运动至神经元的作用部位, 而逆行至胞体被降解和回收。

线粒体的运行轨道

细胞骨架不仅为神经元提供了结构上的支持, 也为细胞器的运输和固定提供了条件。尽管神经纤维细胞骨架包括微管、微丝和中间丝, 但只发现前两者对线粒体的运输发挥作用。微丝的基本组分是一种球状肌动蛋白单体 (G-actin), 它可以通过二聚化形成短的双螺旋纤维型肌动蛋白 (F-actin)。这些单体按照从头到脚的方式排列在二聚体中, 于是产生了具有极性的微丝, 它具有生化上的正负两极区分。微管是延伸在整个细胞质基质中的中空圆柱形多聚体, 它由微管蛋白单体构成, 较肌动蛋白纤维结构更为稳固。微管也具有极性和正负两端。

微管及其结合蛋白

神经元中不同部位的微管分布并不相同。在轴突中, 微管是平行极化排列的, 其正端指向突触方向; 而在树突中, 微管排列则包括平行和反平行两种方式 (见图 1)^[4]。微管的这种结构和排布特性, 对于 kinesin 和 dynein 等线粒体马达蛋白与之结合及运动至关重要。kinesin 马达一般介导货物沿轴突方向顺行运动, dynein 驱动货物沿轴突方向逆行运动。

神经元中的微管被微管结合蛋白 (microtubule-associated proteins, MAPs) 修饰 (如 tau 蛋白), 而 kinesin 和 dynein 在运动过程中遇到 MAPs 时, 势必会受到影响。实验发现, 当遇到微管上由大量 tau 蛋白形成的斑块时, kinesin 倾向于自身解离, 而 dynein 则倾向于反向运动。且 kinesin 对于 tau 蛋白的浓度更为敏感, 其被 tau 蛋白抑制的浓度仅为 dynein 的十分之一。在正常细胞的 tau 蛋白浓度下, 由于 dynein 对 tau 的低敏感性, 使得其不易受到正常细胞 tau 蛋白浓度的影响, 但同样的 tau 蛋白浓度却能对 kinesin 的运动产生影响。在正常细胞中, 细胞体的 tau 浓度低, 而突触端的 tau 浓度高, 这有助于 kinesin 在细胞体附近与微管结合, 顺行运动至突触处释放。而在某些神经退行性疾病中, 如阿兹海默氏病, tau 蛋白常常在细胞体附近聚集, 这就影响了 kinesin 将线粒体运输到突触的过程^[6]。

微丝(肌动蛋白纤维)

微丝, 又称肌动蛋白纤维。神经细胞中, 微丝分布在微管数量较少的部位 (比如突触前端末梢和树突脊), 辅助微管进行线粒体的短距离运输。微丝是由肌动蛋白单体组成的螺旋形多聚物, 它的两端具有不同的生长速度。在神经元中, 肌动蛋白纤维还会形成网络状。肌动蛋白纤维的走向可以直接影响分子马达 myosin 的活性^[7]。间接证据表明, myosin I、II、V、VI 家族可能是线粒体在微丝上运动的马达分子, 但其具体作用机制尚不清楚^[8]。

中间纤维

中间纤维 (intermediate filament, IF) 直径介于微丝和微管之间, 是最稳定的细胞骨架。在细胞中, 中间纤维围绕细胞核分布, 无正负极性之分。中间纤维蛋白有三种类型: 角蛋白、神经丝和波形蛋白。每种类型都含有一个保守的 α -螺旋中心杆状结构域, 两端则是不同非 α -螺旋的头部域和尾部域^[9], 杆状域负责中间纤维的组装, 而头部域和尾部域则暴露

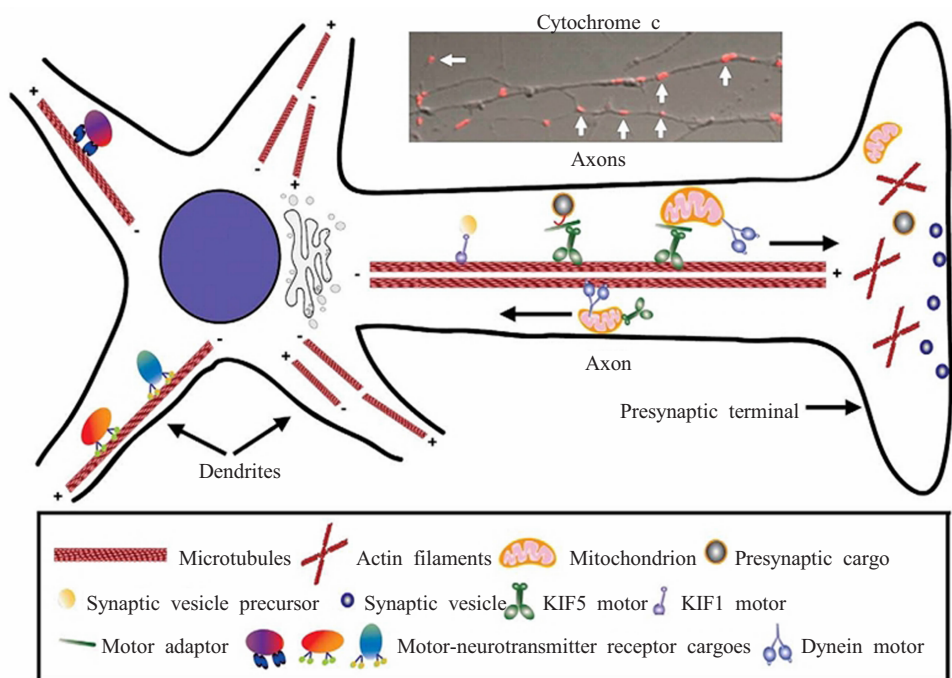


图1 微管在神经细胞中分布示意图^[9] 在神经细胞的轴突中，微管是极化排列的，正端指向突触端，负端指向细胞体端。而在树突中，微管则是混合排列的。树突作为信号的输入端，将许多神经转导递质运往细胞体；轴突作为神经信号的传出部位，通过 kinesin(KIF5,KIF1)马达将突触小泡和线粒体等运往突触，也会通过 dynein 马达将线粒体运回细胞体。图片使用得到了 Elsevier 的允许

Fig.1 The sketch map of microtubules distribution in neuron^[9] In the axon of neuron, microtubules are arrayed in polarity, with the plus ends toward the axonal terminals and the minus ends the cell body; while in dendrites, microtubules are arrayed in opposite directions. Dendrites, as the entrances for information importation, transport various synaptic cargoes to the cell body; axon, as the exit of nerve information, transports the axonal vesicles and mitochondria to the synapse, with the help of kinesin (KIF5,KIF1) motor. The cargoes can be transported back to the cell body as well with the help of dynein motor. Reprinted with permission from Elsevier

在成熟的 10 nm 纤维表面，为线粒体和其它蛋白提供潜在的结合位点。已经有证据表明，中间纤维与线粒体存在相互作用，例如，在横纹肌细胞中，IF 蛋白——肌间线蛋白 (desmin) 的缺失，改变了线粒体的分布、形态和呼吸作用，还会抑制心肌细胞中线粒体对 kinesin 的招募；而线粒体调控细胞凋亡过程中，核心部件 Bcl-2 的过度表达，可修复 desmin 突变型中的线粒体缺陷^[10]。另一种中间纤维蛋白波形蛋白也被证明，其 N 端非 α -螺旋域参与了与线粒体的结合，并且抑制了线粒体的运动^[11]。

线粒体运动的马达

线粒体在轴突方向的长距离快速运输是沿微管进行的，并依赖马达蛋白，利用 ATP 供能提供动力。kinesin 马达负责线粒体的顺行运动，dynein 马达负责线粒体的逆行运动，而 myosin 则负责线粒体在微丝上的短距离运动。

Kinesin 马达

Kinesin 家族中包含超过 40 个成员。典型的 kinesin 是一个由两条重链和两条轻链构成

的蛋白质二聚体，每条重链都有一个保守的球状马达功能域，包含一个 ATP 水解位点和一个微管结合位点。重链通过一个短而灵活的颈部与富含 α 螺旋的轻链相连，两条轻链连接成为尾部域，进而构成二聚体 (见图 2)。马达域之外区域的差别决定了不同 kinesins 的不同功能，如装载货物的性质和马达活性的调节等^[12]。

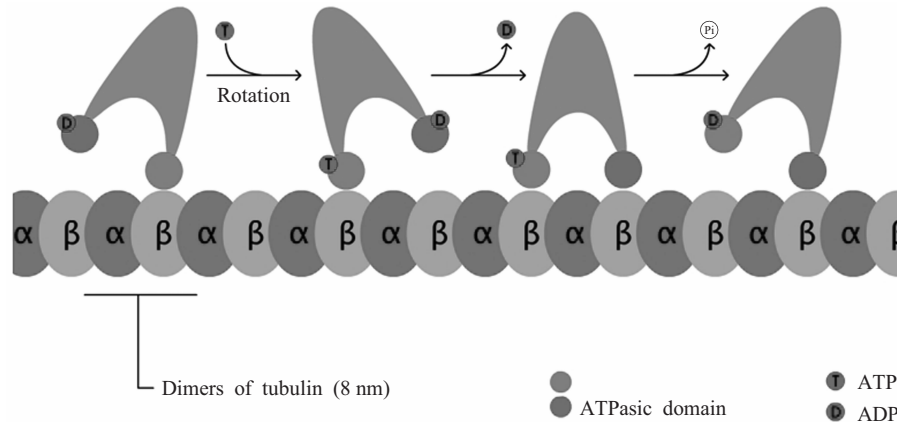


图 2 典型的 kinesin 形态和运动模式图 Kinesin 灰色部分由 kinesin 两条轻链构成的尾部域以及两个细短而灵活的颈部构成，颈部的功能是连接尾部和头部。球状头部是马达功能域，它通过微管结合位点与微管相互作用，并通过水解 ATP 提供动力沿着微管运动

Fig.2 The model of typical kinesin's shape and mobility The body in gray is composed of a tail (containing two light chains) and two thin but flexible necks connecting the tail and heads. The head, the motor domain, interacts with microtubule through its microtubule-binding site and produces energy by ATP hydrolysis

Kinesin-1 是活细胞中第一个被鉴定出来的轴突方向运输马达蛋白，它包括两条重链和两条轻链，其重链被称作 KIF5 (kinesin superfamily protein 5)，N 端马达域直接与微管相连，C 端直接与货物或间接通过轻链与货物相连；而轻链则能通过卷曲螺旋域形成同源或异源二聚体^[9]。

除了 KIF5，kinesin-3 家族成员 KIF1B α 可能也是一种参与线粒体运动的 kinesin 马达蛋白，而该家族的另一个成员 KIF1B β 主要参与神经细胞中突触小泡的运输，KIF1B α 与 KIF1B β 的 C 端差异造成所装载的货物不同。根据是否存在两段插入序列，KIF1B 具有多种异构体。第一段插入序列为一段赖氨酸丰富的环状域，也被称为 K-loop；第二段插入序列位于与马达功能域衔接的位置。绝大多数的 KIF1B 异构体或者同时具有这两段插入序列，或者两者皆无。实验证明，这两段插入序列都能够独立加强与微管的亲和力及 ATP 酶活性，但是没有观察到其对马达运动速度的影响^[12]。

Dynein 马达及其激活蛋白

Dyneins 可分为胞质动力蛋白 (cytoplasmic dynein) 和轴丝动力蛋白 (axonemal dynein)，前者是轴突中线粒体逆行运动的主要马达，而后者主要分布在纤毛或鞭毛中，用于线粒体的运输。Dynein 是一个巨大而复杂的分子 (约 1.5 MDa)，大约有 12 个多肽亚基，它包含两条重链和相当数量的中等链、中轻链及轻链 (图 3)，这些肽链的功能可能包括联系 dynein 马达与运载货物，或者调控线粒体的运动^[9]。

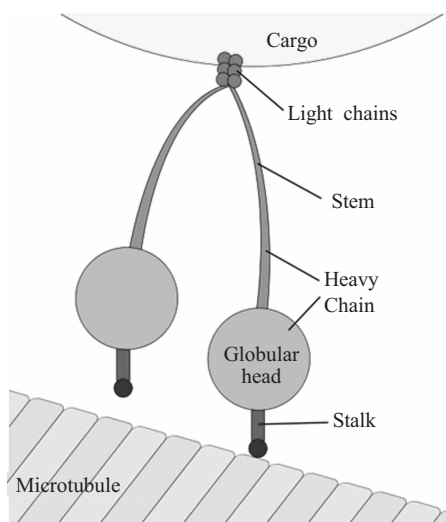


图3 Dynein 形态模式图 Dynein 两个巨大的球状头部是由其一部分重链构成的，另一小部分重链和中轻链构成了连接重链头部与轻链尾部的干(stem)，轻链用于与货物的连接，与 kinesin 不同的是，重链头部并没有直接与微管相连，而是通过一段茎(stalk)在微管上运动

Fig.3 The model of dynein's shape The two giant heads of dynein is made up of a part of heavy chain; the left part of heavy chain and mediate light chains constitute the stem, binding heavy chain head and light chain tail; the light chain tail is used to associate with the cargo. Different from kinesin, the heavy chain head does not connect with microtubule directly, instead mobiles on the microtubule through a segment of stalk

绝大多数胞质 dynein 的功能离不开一个巨大复合物 dynactin 的作用。Dynactin (动力蛋白激活蛋白) 分子量约 1.2 MDa, 包含有 11 个不同的亚基, 其最大亚基 p150^{Glucl} (在酵母中的同源物为 Nip100) 可将胞质 dynein 和微管直接相连, 并能够加强 dynein 马达在微管上的持续合成能力。Dynactin 主要由肌动蛋白相关蛋白 Arp1 纤维构成, 纤维两端有 CapZ、Arp11 和 P62 等亚基, 突出的侧臂由 p150^{Glucl} 的二聚体形成, p150^{Glucl} 的 N 端包含一个 CAP-Gly 结构域和一个碱性结构域, 二者都能与微管相连^[13]。酵母同源蛋白体外实验发现, dynactin 通过 Nip100 上的一个卷曲螺旋区域增加了 dynein 运动的步长^[14], 并且, 对 dynein-dynactin 复合物的研究指出, dynein 马达可以双向运输, 而不仅仅是沿着微管负向运输^[15]。

胞质 dynein 对于神经元线粒体轴突方向的运输不可或缺。在果蝇中, 胞质 dynein 是介导线粒体逆行运动的基本马达。此外, dynein 重链基因和 dynactin p150^{Glucl} 基因的突变可以扰乱双向的细胞器快速运动, 结果造成轴突因聚集了大量顺行和逆行货物 (包括线粒体) 而膨大, 这与 kinesin 变异的表型相似。另外, dynactin 亚基 p150^{Glucl} 的一种基因突变造成了线粒体在细胞体的聚集。这些现象似乎暗示着, kinesin 和 dynein 这两种功能相反的马达有可能通过某种机制相互协调。而这种机制的具体内容及这些马达究竟如何与突触活性和神经元细胞功能协调一致地控制线粒体的运动和分布, 都是我们要探究的问题^[9]。

Myosin 马达

当以微管为基础的分子马达 kinesin 和 dynein 正在以很快的速度将货物或者细胞器运过长长的轴突时, myosin 则正在突触前端末梢或者生长节点处, 沿着肌动蛋白纤维进行短距离运输。尽管还没有直接证据证明 myosin 在以肌动蛋白为基础的神经元线粒体运输中所发挥的作用, 但是在芽殖酵母、曲霉和植物细胞中, 依赖于肌动蛋白的线粒体运动已经被很好地描述出来。

Myosin 在形态上可以分为头部域、颈部域和尾部域。其中, 头部域与肌动蛋白纤维相连接, 并且具有 ATP 水解活性, 为马达的逆行运动提供动力; 颈部域的功能为连接和力的传递; 尾部域参与与货物或其他 myosin 组分的相互作用, 也可能与马达功能的调节相关。

虽然 myosin I、II、V 和 VI 都被认为参与了神经元中细胞器和小泡的运输, 但是 myosin V 具有其特殊性, 它还被认为与其它特殊 myosins 的定位及其在轴突中运输线粒体相关^[7]。myosin V 是一个双头的马达, 它包括一个独特的球状尾部域, 在与肌动蛋白纤维解离时会经历多种方式^[6]。因为 myosin V 与货物结合的运动速率同线粒体在肌动蛋白纤维上的运动速率相近, 但是却比其它轴突小泡或者细胞器的运动速度慢, 因此, myosin V 很可能介导线粒体沿着轴突运动。此外, myosin V 还可与任何一个 kinesin 马达直接作用而形成异源马达复合物, 或者与 8 kD 的 dynein 轻链结合^[7], 这使得双马达复合物协同调控线粒体在微管上进行长距离运输, 以及在肌动蛋白纤维上进行短距离运输成为可能。所以, myosin V 是驱动线粒体在肌动蛋白纤维上运输的最佳候选分子, 尽管现在还不清楚 myosin V 是否连到轴突线粒体, 以及线粒体向突触端运输过程中到底多大程度上需要 myosin V。

Myosin-IX (myo19), 是人体内新发现的一种与线粒体运输和保留相关的马达, 在它 970 个氨基酸残基的重链上, 包含有一个马达域、三个 IQ motif 和一个短尾。颈部的三个 IQ motif 可能与钙调蛋白或类似钙调蛋白的轻链相连; 尾部则是线粒体定位必不可少的^[8]。在 GFP-Myo19 过量表达的实验中发现, 线粒体运动的平均步长变小, 这可能是由于 myo19 促进线粒体的运行轨道从肌动蛋白纤维变为微管所致^[9]。

将线粒体连接到马达上的衔接蛋白

货物必须与合适的运输马达相连后才能在相应的细胞骨架轨道上运行, 这种连接方式至少有两种, 一种是马达蛋白与货物上的受体直接相连, 一种是通过衔接蛋白间接相连。目前的证据表明, 第二种连接方式在神经元中更为重要^[20], 虽然现在还不清楚脂类相互作用是否有助于将马达蛋白招募到线粒体膜上, 但是, 实验已经证实, 一些衔接蛋白复合物在特定的运输机制中与线粒体的连接有关。

Syntabulin

Syntabulin 是外周膜结合蛋白, 最初被认定为一种与突触融合蛋白 (syntaxin) 相结合的蛋白, 它将含有 syntaxin 的小泡通过 kinesin-1 连接到微管^[21]。后来发现, syntabulin 通过 C 端尾巴可以与线粒体相连, 并在线粒体顺行运动中起核心作用^[22]。Syntabulin 包含多种 kinesin 共有区, 这为依赖于信号的蛋白质磷酸化调节提供了条件^[5]。对 kinesin-syntabulin 相互作用的抑制将会扰乱线粒体在轴突中的顺行运动, 而不影响其逆行运动, 因此, syntabulin 是一种在线粒体顺行运动中起重要作用的连接线粒体与 kinesin 的衔接蛋白。

Milton 和 Miro

Milton 是另一种在轴突线粒体运输中起作用的连接组分, 它是一种果蝇线粒体的衔接蛋白, 在人类中有两种同源物, Grif-1 和 OIP106。三种蛋白都包含一个 huntingtin 连接蛋白 1 (huntingtin associated protein 1, HAP1) 的 N 端 (HAPN) 同源区域, 这一区域折叠成两个卷曲螺旋域^[23]。Milton 的 N 端负责将 KHC (kinesin heavy chain) 招募到线粒体^[27], milton 的变异将导致突触末端和轴突中线粒体的丢失^[24]。在人类神经细胞中, 含量丰富的 Grif-1 还参与了与 A 型 γ -氨基丁酸 (GABAA) 受体和 β 氧连 N-乙酸葡糖胺转移酶 (OGT) 的相互作用。

Miro (mitochondrial Rho-GTPase, 线粒体 Rho GTP 酶) 在线粒体外膜上定位, 负责将

与 KHC 相连的 milton 与线粒体连接。Miro 在人类中有两种同源物，hMiro1 和 hMiro2，酵母中只有一种 Gem1，它们的结构中都含有两个不同的 GTP 酶结构域、两个 EF 手形 (EF hand) 钙联区域和一段跨膜的 C 端尾巴。独特的 EF 手形使得 Miro 有可能感知细胞内 Ca^{2+} 浓度，从而影响线粒体的运动，实验已经发现，高浓度的 Ca^{2+} 抑制了线粒体的运动^[25]。dMiro 基因的突变扰乱了线粒体的顺行运动，从而破坏延时刺激时神经递质的释放和 Ca^{2+} 的缓冲^[26]。生化和遗传学证据表明，kinesin 重链 KIF5 的招募和线粒体运输都是独立于 kinesin 轻链的，但是 kinesin 轻链会抑制 KIF5 与 milton 的连接^[27]。

最近的研究发现，在 milton-miro 复合物中还存在着另一种重要的蛋白组分 pink1，它是定位于线粒体外膜的一种激酶，被认为可以促进线粒体的分裂而抑制其融合，pink1 蛋白的缺失会影响线粒体的形状和运动。有趣的是，pink1 本身的序列并不含有线粒体定位区域，而是通过与 milton 和 miro 的相互作用与线粒体相连，而且，三者共同作用可以调节线粒体融合分裂动态^[28,29]，如图 4。

虽然 milton 和 syntabulin 都是重要的线粒体与马达蛋白之间的衔接蛋白，但它们通过不同的机制发挥作用，这包括它们与马达分子 KIF5B 的连接方式、与线粒体的连接方式，以及对钙离子信号的反应和蛋白质磷酸化的调节等。线粒体受体或者马达-衔接蛋白复合物的鉴定促进了对于线粒体运动机制的理解，为进一步研究神经元中线粒体如何运输和分布的分子机制提供了有效途径。

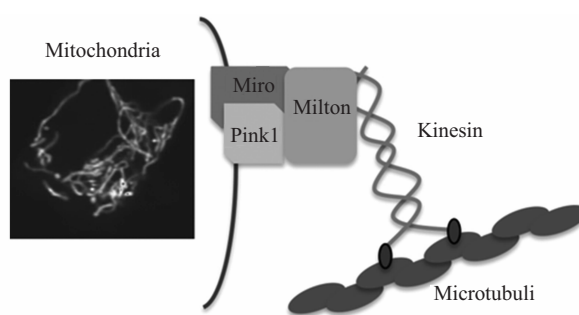


图 4 Milton-miro 复合物将 kinesin 连接到线粒体示意图^[29] Milton-miro 复合物作为一种至少含有三种组分的连接蛋白复合物，将线粒体与 kinesin 相连，其中组分 milton 与 kinesin 重链相连，miro 衔接 milton 与线粒体，而 pink1 则通过与 miro 和 milton 的相互作用定位于线粒体外膜。图片使用得到了美国化学学会允许

Fig.4 The model of Milton-miro complex linking kinesin and mitochondrion^[29] Milton-miro complex, as an adapter complex containing three components at least, links kinesin to the mitochondrion. Milton links with kinesin heavy chain; miro mediates milton and mitochondrion; while pink1 localizes on the mitochondrial outer membrane by interacting with miro and milton. Adapted with permission from Copyright (2009) American Chemical Society

芽殖酵母

芽殖酵母的运行轨道——肌动蛋白锚链 (cable)

在芽殖酵母中，细胞质微管是稀疏的，药物学和基因改造研究表明，线粒体运动并不依赖微管，而是依赖于肌动蛋白纤维束。在酵母线粒体和肌动蛋白骨架的同步摄影中发现，线粒体是沿着肌动蛋白锚链运动的^[30]。如果通过药物处理破坏肌动蛋白细胞骨架、去除肌动蛋白结合蛋白，或者改变 myosin 在肌动蛋白单体上的结合位点，都会造成线粒体运动的停止。

单体肌动蛋白聚合成为肌动蛋白丝，而这些细丝或者聚集成束作为肌动蛋白锚链，或

者聚集成簇成为肌动蛋白外周补丁 (其典型功能是作为内吞作用位点)^[31]。肌动蛋白细胞骨架并非静止的,而是在向母体逆流。肌动蛋白纤维在 Arp2/3 复合物作用下可使倒钩端 (正向端) 生长,这对肌动蛋白锚链的逆流意义重大。

Mitochore 将线粒体与肌动蛋白束相连

Mitochore 复合物包含 Mdm10p、Mdm12p 和 Mmm1p,它可能通过招募 Arp2/3 参与线粒体 - 肌动蛋白连接^[32,33]。*MDM10*、*MDM12* 和 *MMM1* 基因的缺失都会造成 mtDNA 遗传缺陷,以及线粒体形态与线粒体外膜 β - 桶蛋白的缺陷。此外,mitochore 复合物的组分 Mdm10p、Mdm12p 和 Mmm1p 都直接参与了外膜 β - 桶蛋白的组装^[34,35]。

MDM10 基因缺失的细胞中,线粒体形成一个大的球状结构,不能很好地从母体向芽体运动,并且出现 mtDNA 的迅速丢失;但是 *MDM10* 的变异并不会影响细胞核遗传或者损伤细胞生命力。有观点认为,产生这种现象的原因是 *MDM10* 的缺失抑制了收缩环的闭合,但不会影响其在细胞分裂后期的组装和定位;并且其延迟了有丝分裂结束网络 (mitotic exit network, MEN) 组分 Cdc14p (其作用是促进有丝分裂结束和细胞质分裂的开始) 的释放,这也可能是 *mdm10 Δ* 细胞中出现了多出芽现象^[36]的原因^[37]。

顺行运动的动力: Arp2/3 复合物

Arp2/3 复合物是顺行运动的动力生产者。活体细胞摄影证明,线粒体的顺行运动需要 Arp2/3 被招募到线粒体并活化。活化后,Arp2/3 复合物能够促进肌动蛋白成核,使肌动蛋白纤维在倒钩端 (正向端) 生长,促进肌动蛋白聚集成为沿着肌动蛋白锚链向母体端逆行运动的外周肌动蛋白补丁^[38,39],使肌动蛋白锚链逆流。Arp2/3 复合物还能够与刚刚聚合的 F-actin 结合,这两种活性导致了肌动蛋白网络在线粒体表面的形成,也为其运动提供了动力。

线粒体的一种外周膜蛋白 Jsn1p,在体外可以与纯化的 Arp2/3 亚基相连,并且也是线粒体顺行运动所必须的,因此, Jsn1p 很可能是线粒体上 Arp2/3 复合物的受体蛋白^[40]。

线粒体在两端的保留

在芽殖酵母细胞分裂中,需要线粒体从母体向芽体运动,但是,线粒体在母体远端的保留阻止了所有线粒体都被运往芽体端。理论上,肌动蛋白束的逆行流动可以将线粒体带回母体,因此,线粒体在芽体端的锚定也很必要。

V 型 myosin 和它的连接伴侣 Ypt11p (一种 Rab G 蛋白),在线粒体在芽端的锚定中起作用^[41]。在芽殖酵母中,有两种 V 型 myosin——Myo2p 和 Myo4p。前者作用于分泌小泡、过氧化物酶体和高尔基体等在芽端的固定,后者则可能对顺行 mRNA 运动以及 mRNA 在芽端的固定起作用。在 *MYO2* 和 *YPT11* 突变体中,都存在芽端线粒体保留的缺陷,但是线粒体的顺行运动、形态,以及线粒体在肌动蛋白束上的定位都不受影响。然而,去除芽端的 Myo2p 对线粒体在芽端的固定也无影响。因此,研究者认为,Myo2p 和 Ypt11p 并非直接在芽端固定线粒体,而是将线粒体的保留因子运输到芽端。

根据以上的讨论,我们可以建立这样一种线粒体在芽殖酵母中运输和保留的图象:肌动蛋白锚链是线粒体顺行和逆行的运行轨道;线粒体必须在 mitochore 的帮助下与肌动蛋白

锚链结合；并通过 Jsn1p 招募到为其顺行运动提供能量的 Arp2/3 复合物才有可能被运往芽体，否则随着肌动蛋白锚链的逆流回到母体；到达芽体后，线粒体与细胞膜在 Myo2p 和 Ypt11p 运输来的某些组装因子的作用下，被固定在芽体端。Arp2/3 复合物被招募到线粒体外膜有可能是决定线粒体去向的关键因素，而二者结合的牢固程度则是由线粒体的膜电势决定的，如图 5^[40]。

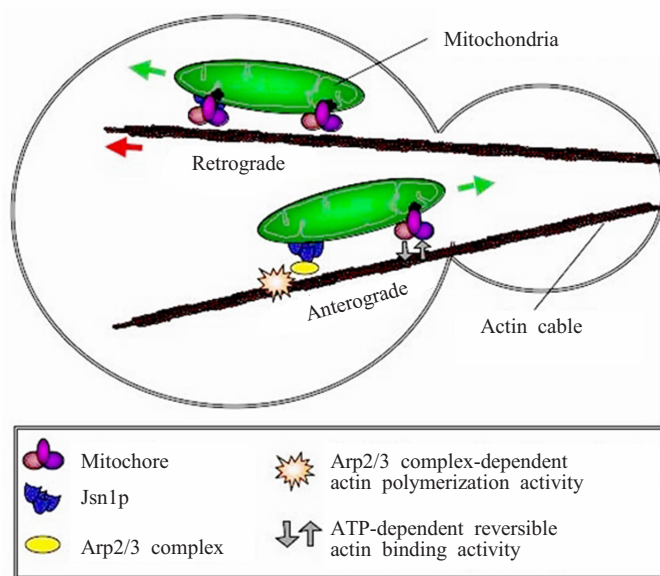


图 5 芽殖酵母中，线粒体向芽端运输的顺行和逆行模式图^[40] 当结合了 mitochore 的线粒体未在 Jsn 的帮助下招募到 Arp2/3 时，会随着肌动蛋白锚链的逆流而逆行向母体运动；若招募了 Arp2/3，则会通过促进肌动蛋白纤维的聚合提供动力，顺行向芽体运动。图片使用得到了 Elsevier 允许

Fig.5 The model of mitochondria anterograde and retrograde movement in budding yeast ^[40] When the mitochondria associated with mitochore haven't recruited Arp2/3 complex by the help of Jsn, they have to move back to the mother end with the retrograde flow of the actin cable. However, if they have recruited Arp2/3 complex, which can supply energy by promoting the

actin polymerization, mitochondria can move anterogradely to the daughter end. Reprinted with permission from Elsevier

线粒体除了通过 mitochore 在肌动蛋白锚链上运输外，还存在第二种可能方式，即是依赖于某种马达的连接。上文提到的 myosin V 的一种异构体 Myo2p，参与了某些细胞器货物向芽端的运输。而一种线粒体遗传所必须的周边外周蛋白 Mmr1p，或者一种 Rab GTP 酶 Ypt11p，都能与 Myo2p 尾端结合，而且过量表达都能驱动线粒体向芽端运动。因此研究者认为，Myo2p 作为线粒体的马达蛋白，通过 Mmr1p 或者 Ypt11p 作为衔接蛋白，在肌动蛋白锚链上运动^[40,42]。

总 结

线粒体的运动和固定是一个十分重要而复杂的问题，其中涉及了许多分子马达和衔接蛋白，但是很多具体机制还不是很清晰。随着更多线粒体运动相关的重要蛋白质的结构被解析，我们将更好地了解这些机制产生的原因，为设计与线粒体运动相关的神经退行性疾病的药物提供有用信息。

参考文献:

- Hollenbeck PJ, Saxton WM. The axonal transport of mitochondria. *J Cell Sci*, 2005, 118(Pt 23): 5411~5419
- Miller KE, Sheetz MP. Axonal mitochondrial transport and potential are correlated. *J Cell Sci*, 2004, 117(Pt 13): 2791~2804
- Peng HB, Lee CW. Mitochondrial clustering at the vertebrate neuromuscular junction during presynaptic differentiation. *J Neurobiol*, 2006, 66(6): 522~536
- Hirokawa N, Takemura R. Kinesin superfamily proteins and their various functions and dynamics. *Exp Cell Res*, 2004, 301(1): 50~59
- Cai Q, Sheng ZH. Mitochondrial transport and docking in axons. *Exp Neurol*, 2009, 218(2): 257~267
- Dixit R, Ross JL, Goldman YE, Holzbaur EL. Differential regulation of dynein and kinesin motor proteins by tau. *Science*, 2008, 319(5866): 1086~1089
- Bridgman PC. Myosin-dependent transport in neurons. *J Neurobiol*, 2004, 58(2): 164~174
- Anesti V, Scorrano L. The relationship between mitochondrial shape and function and the cytoskeleton. *Biochim Biophys Acta*, 2006, 1757(5-6): 692~699
- Herrmann H, Aebi U. Intermediate filaments and their associates: Multi-talented structural elements specifying cytoarchitecture and cytodynamics. *Curr Opin Cell Biol*, 2000, 12(1): 79~90
- Boldogh IR, Pon LA. Mitochondria on the move. *Trends Cell Biol*, 2007, 17(10): 502~510
- Nekrasova OE, Mendez MG, Chernoivanenko IS, Tyurin-Kuzmin PA, Kuczmarski ER, Gelfand VI, Goldman RD, Minin AA. Vimentin intermediate filaments modulate the motility of mitochondria. *Mol Biol Cell*, 2011, 22(13): 2282~2289
- Matsushita M, Yamamoto R, Mitsui K, Kanazawa H. Altered motor activity of alternative splice variants of the mammalian kinesin-3 protein KIF1B. *Traffic*, 2009, 10(11): 1647~1654
- King SJ, Culver-Hanlon TL, Lex SA, Stephens AD, Quintyne NJ. A microtubule-binding domain in dynactin increases dynein processivity by skating along microtubules. *Nat Cell Biol*, 2006, 8(3): 264~270
- Kardon JR, Reck-Peterson SL, Vale RD. Regulation of the processivity and intracellular localization of *Saccharomyces cerevisiae* dynein by dynactin. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106(14): 5669~5674
- Holzbaur ELF, Ross JL, Wallace K, Shuman H, Goldman YE. Processive bidirectional motion of dynein-dynactin complexes *in vitro*. *Nat Cell Biol*, 2006, 8(6): 562~570
- Langford GM. Myosin-V, a versatile motor for short-range vesicle transport. *Traffic*, 2002, 3(12): 859~865
- Naisbitt S, Valtchanoff J, Allison DW, Sala C, Kim E, Craig AM, Weinberg RJ, Sheng M. Interaction of the postsynaptic density-95/guanylate kinase domain-associated protein complex with a light chain of myosin-V and dynein. *J Neurosci*, 2000, 20(12): 4524~4534
- Quintero OA, DiVito MM, Adikes RC, Kortan MB, Case LB, Lier AJ, Panaretos NS, Slater SQ, Rengarajan M, Feliu M, Cheney RE. Human Myo19 is a novel myosin that associates with mitochondria. *Curr Biol*, 2009, 19(23): 2008~2013
- Titus MA. Motors: Unleashing mitochondria. *Curr Biol*, 2009, 19(23): R1076~1078
- Goldstein LS, Yang Z. Microtubule-based transport systems in neurons: The roles of kinesins and dyneins. *Annu Rev Neurosci*, 2000, 23: 39~71
- Su Q, Cai Q, Gerwin C, Smith CL, Sheng ZH. Syntabulin is a microtubule-associated protein implicated in syntaxin transport in neurons. *Nat Cell Biol*, 2004, 6(10): 941~953
- Cai Q, Gerwin C, Sheng ZH. Syntabulin-mediated anterograde transport of mitochondria along neuronal processes. *J Cell Biol*, 2005, 170(6): 959~969
- Liu X, Hajnoczky G. Ca²⁺-dependent regulation of mitochondrial dynamics by the Miro-Milton complex. *Int J Biochem Cell Biol*, 2009, 41(10): 1972~1976
- Stowers RS, Megeath LJ, Gorska-Andrzejak J, Meinertzhagen IA, Schwarz TL. Axonal transport of mitochondria to synapses depends on Milton, a novel *Drosophila* protein. *Neuron*, 2002, 36(6): 1063~1077
- Yi M, Weaver D, Hajnoczky G. Control of mitochondrial motility and distribution by the calcium signal: A homeostatic circuit. *J Cell Biol*, 2004, 167(4): 661~672
- Guo X, Macleod GT, Wellington A, Hu F, Panchumarthi S, Schoenfield M, Marin L, Charlton MP, Atwood HL, Zinsmaier KE. The GTPase dMiro is required for axonal transport of mitochondria to *Drosophila* synapses. *Neuron*, 2005, 47(3): 379~393
- Glater EE, Megeath LJ, Stowers RS, Schwarz TL. Axonal transport of mitochondria requires Milton to recruit kinesin heavy chain and is light chain independent. *J Cell Biol*, 2006, 173(4): 545~557
- Bigotti MG, Bellamy SR, Clarke AR. The asymmetric ATPase cycle of the thermosome: Elucidation of the binding, hydrolysis and product-release steps. *J Mol Biol*, 2006, 362(4): 835~843
- Selkoe DJ, Weihofen A, Thomas KJ, Ostaszewski BL, Cookson MR. Pink1 forms a multiprotein complex with Miro and Milton, linking pink1 function to mitochondrial trafficking. *Biochemistry*, 2009, 48(9): 2045~2052
- Fehrenbacher KL, Yang HC, Gay AC, Huckaba TM, Pon LA. Live cell imaging of mitochondrial movement along actin cables in budding yeast. *Curr Biol*, 2004, 14(22): 1996~2004
- Young ME, Cooper JA, Bridgman PC. Yeast actin patches are networks of branched actin filaments. *J Cell Biol*, 2004, 166(5): 629~635
- Boldogh I, Vojtov N, Karmon S, Pon LA. Interaction between mitochondria and the actin cytoskeleton in budding yeast requires two integral mitochondrial outer membrane proteins, Mmm1p and Mdm10p. *J Cell Biol*, 1998, 141(6): 1028

- 1371~1381
33. Boldogh IR, Nowakowski DW, Yang HC, Chung H, Karmon S, Royes P, Pon LA. A protein complex containing Mdm10p, Mdm12p, and Mmm1p links mitochondrial membranes and DNA to the cytoskeleton-based segregation machinery. *Mol Biol Cell*, 2003, 14(11): 4618~4627
 34. Meisinger C, Rissler M, Chacinska A, Szklarz LK, Milenkovic D, Kozjak V, Schonfisch B, Lohaus C, Meyer HE, Yaffe MP, Guiard B, Wiedemann N, Pfanner N. The mitochondrial morphology protein Mdm10 functions in assembly of the preprotein translocase of the outer membrane. *Dev Cell*, 2004, 7(1): 61~71
 35. Meisinger C, Pfannschmidt S, Rissler M, Milenkovic D, Becker T, Stojanovski D, Youngman MJ, Jensen RE, Chacinska A, Guiard B, Pfanner N, Wiedemann N. The morphology proteins Mdm12/Mmm1 function in the major beta-barrel assembly pathway of mitochondria. *EMBO J*, 2007, 26(9): 2229~2239
 36. Sogo LF, Yaffe MP. Regulation of mitochondrial morphology and inheritance by Mdm10p, a protein of the mitochondrial outer membrane. *J Cell Biol*, 1994, 126(6): 1361~1373
 37. Garcia-Rodriguez LJ, Crider DG, Gay AC, Salanueva JJ, Boldogh IR, Pon LA. Mitochondrial inheritance is required for MEN-regulated cytokinesis in budding yeast. *Curr Biol*, 2009, 19(20): 1730~1735
 38. Kaksonen M, Sun Y, Drubin DG. A pathway for association of receptors, adaptors, and actin during endocytic internalization. *Cell*, 2003, 115(4): 475~487
 39. Huckaba TM, Gay AC, Pantalena LF, Yang HC, Pon LA. Live cell imaging of the assembly, disassembly, and actin cable-dependent movement of endosomes and actin patches in the budding yeast, *Saccharomyces cerevisiae*. *J Cell Biol*, 2004, 167(3): 519~530
 40. Boldogh IR, Fehrenbacher KL, Yang HC, Pon LA. Mitochondrial movement and inheritance in budding yeast. *Gene*, 2005, 354: 28~36
 41. Boldogh IR, Ramcharan SL, Yang HC, Pon LA. A type V myosin (Myo2p) and a Rab-like G-protein (Ypt11p) are required for retention of newly inherited mitochondria in yeast cells during cell division. *Mol Biol Cell*, 2004, 15(9): 3994~4002
 42. Frederick RL, Okamoto K, Shaw JM. Multiple pathways influence mitochondrial inheritance in budding yeast. *Genetics*, 2008, 178(2): 825~837

Mitochondrial Movement and Its Related Cytoskeletons and Proteins

CHEN Shaohong^{1,2}, PANG Xiaoyun¹, SUN Fei¹

1. National Laboratory of Biomacromolecular, Institute of Biophysics, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China
2. Department for Intensive Instruction, Kuang Yaming Honors School, Nanjing University, Nanjing 210093, China

This work was supported by grants from the "973" Program(2011CB910301), the National Natural Science Foundation of China (31021062) and the Important Direction Project for Knowledge Innovation by the Chinese Academy of Sciences(KSCX2-EW-J-3)

Received: Oct 20, 2011 **Accepted:** Nov 18, 2011

Corresponding author: SUN Fei, Tel: +86(10)64888582, Fax: +86(10)64888376,
E-mail: feisun@ibp.ac.cn

Abstract: Mitochondria are elementary organelles in eukaryotic cells, which have a significant function on the cell energy supply, the calcium homeostasis, cell apoptosis, etc. Therefore, the proper mitochondria distribution, involving mitochondria movement and stationary, is linked with cell's function and survival. The balance between mitochondria movement and stationary seems more crucial in polarized cells (i.e. neuron cells) and budding yeast. The cytoskeleton and related proteins play the crucial roles in the process of mitochondrial motility, and those indispensable elements such as microtubule, microfilament, motor proteins, adaptor proteins and cargo proteins in the mitochondrion, as well as the recent studies in this field will be discussed in this review.

Key Words: Mitochondrial movement; Neuron; Budding yeast; Cytoskeleton; Motor; Adaptor

DOI: 10.3724/SP.J.1260.2011.01019